

法政大学学術機関リポジトリ  
HOSEI UNIVERSITY REPOSITORY

## 東久留米市で発生したPlum pox virusの疫学調査

著者	荒川 晃大
出版者	法政大学大学院理工学研究科
雑誌名	法政大学大学院紀要．理工学・工学研究科編
巻	59
ページ	1-3
発行年	2018-03-31
URL	<a href="http://doi.org/10.15002/00021631">http://doi.org/10.15002/00021631</a>

# 東久留米市で発生した *Plum pox virus* の疫学調査

## EPIDEMIOLOGICAL STUDIES OF PLUM POX VIRUS OCCURRED IN HIGASHI-KURUME CITY, TOKYO

荒川 晃大

Kota ARAKAWA

指導教員 西尾 健

法政大学大学院理工学研究科生命機能学専攻修士課程

Plum pox virus (PPV) was detected in the orchards in Higashi-kurume city, Tokyo in 2014. Survey took place at the two orchards in Higashi-kurume 2 times per year from 2014 to 2017. PPV infected trees were detected every year in two orchards. The total number of infected tree was 21 (Orchard No.1: 8, Orchard No.2:13). The phylogenetic analysis of the 20 isolates from main branches of 13 trees using complete PPV genome sequences revealed that all the isolates of Higashi-kurume were closely related to isolate Ou 7, which was isolated from the Orchard of Ome city. Having compared the complete sequences of all isolates, the isolates of the same orchard showed a more closer relationship than the isolates of the other orchard. Farther, the same mutation was found in neighboring PPV infected trees detected in 2015, 2016 and 2017. It seems that PPV was introduced independently into two orchards before 2014, then spread to neighboring trees by aphids respectively.

**Key words:** plan virus, Plum pox virus, epidemiology

### 1. 目的

ウメ輪紋ウイルス (*Plum pox virus*: PPV) は *Prunus* 属の植物に感染し、甚大な被害を生じさせる。2014 年に東京都東久留米市の 3 つのウメ園場においてその感染が確認され、いずれの感染園地においても感染拡大を阻止するために感染樹の伐採措置がとられた (図 1)。日本においては、園場内における経時的な PPV 感染拡大についての知見は乏しい。本研究では、2014 年～2017 年までの東久留米市内の PPV 感染園場において感染拡大の現状を調査した。また、感染が確認された PPV に対しシーケンスを行うことで、新規感染地での PPV の感染拡大の様態についての知見を得ることを目的とした。

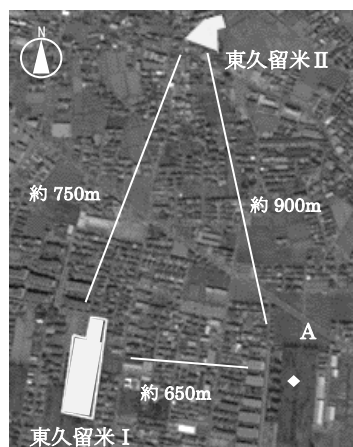


図 1. PPV 感染園場の位置関係

2014 年時感染樹数は、図中 A 重度感染園場:165 本、東久留米 I:1 本、東久留米 II:2 本であった。

### 2. 材料及び方法

#### (1) 東久留米園場における経時的 PPV 感染拡大調査

2014 年に PPV の感染が確認された東久留米市内の 2 園場 (東久留米 I・東久留米 II) について 2014 年～2017 年まで年 2 回 (春期・秋期)、前回の調査 (春調査では前年の秋期調査、秋調査では当年春調査) で確認された感染樹の隣接 4 列のウメを対象に、各主枝 (根からみて最初の分枝で別れる樹の各部位) より 5 枚の葉を採取した。その後それらを凍結粉碎し、主枝ごとの葉サンプルを同量ずつ混ぜ合わせ摩砕することで、樹全体の総合果汁液を作製した。以上のように調製した各ウメ樹のサンプルに PPV の 3'UTR 領域を標的としたイムノキャプチャー-RT-PCR を行うことで PPV 検定を行った。

#### (2) 東久留米分離株に対するシーケンス解析

2017 年 5 月 13 日までに PPV の感染が確認されたウメのうち東久留米 I 園場で 6 本、東久留米 II 園場で 4 本の樹へのシーケンス解析を行った (図 2)。感染樹の PPV 陽性を示した主枝全体から採取した 5 枚の葉を凍結粉碎し、混合することで主枝全体のサンプルを調整する。その後 Rneasy Plant Mini Kit (Qiagen) を用いて RNA を抽出し、RT-PCR にて検出された PPV の全ゲノムへのシーケンスを行った。その後、既報の PPV 分離株 (国外: 10 株、国内: 37 株) と系統樹を作製し、関連性を解析した。

### 3. 結果

(1) 2015 年～2017 年までの間に東久留米 2 圃場において合計 174 本のウメ樹において 1 回以上の PPV 検定を行い、東久留米 I 圃場では 8 本、東久留米 II 圃場においては 12 本の感染樹が確認された(表 1)。感染初期には 2 圃場の 3 つのエリアで感染が発生し毎年新たな感染樹が確認された。また、年を経るごとに発生する感染は元の感染樹に隣接する樹に発生した場合と圃場内の離れた位置に発生した場合が確認された(図 2)。感染が確認された樹は次の試験を行う前に全て伐採された。

表 1. 東久留米市内 2 圃場における PPV 感染拡大調査結果

圃場	2014 年	2015 年		2016 年		2017 年		合計
	11/13	5/14	10/6	5/19	10/4	5/13	9/20	
I	1/24*	4/23	0/39(1)	0/38	1/38	1/38	nt**	8
II	2/71	1/69	1/68(1)	2/72(5)	0/124	0/124	nt	12

\*: PPV 感染樹数 / 試験樹数 ( ): 本検定以外の目視調査で見つかった PPV 陽性樹 \*\*: not tested

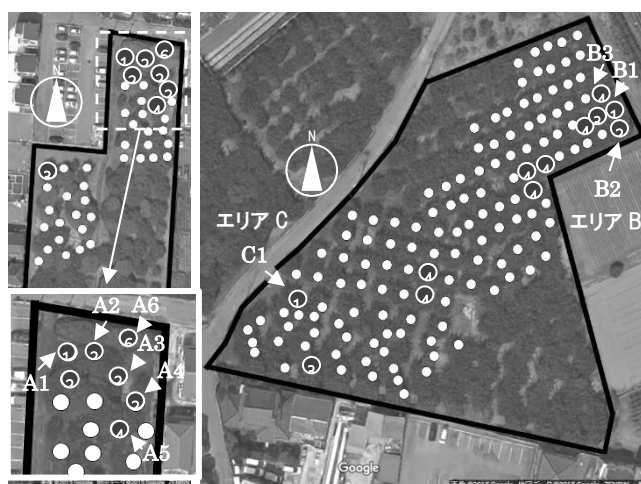


図 2. 東久留米圃場における PPV 感染樹の発生

東久留米市内 2 か所の PPV 感染圃場を表している。左: 東久留米 I、右: 東久留米 II。○: 2014 年～2016 年までの調査で PPV 検定が一度でも行われたウメ樹。●: 確認された感染樹、番号記された年と時期を表す (①: 2014 年 ②: 2015 年春季 ③: 2015 年秋季 ④: 2016 年春季 ⑤: 2016 年秋季 ⑥: 2017 年春季)。矢印: シークエンス解析を行った感染樹およびシークエンス解析対象樹のサンプル番号。2014 年からの感染が見られたエリアを東久留米 I 圃場北側で A、東久留米 II 圃場東側を B、西側を C とした。

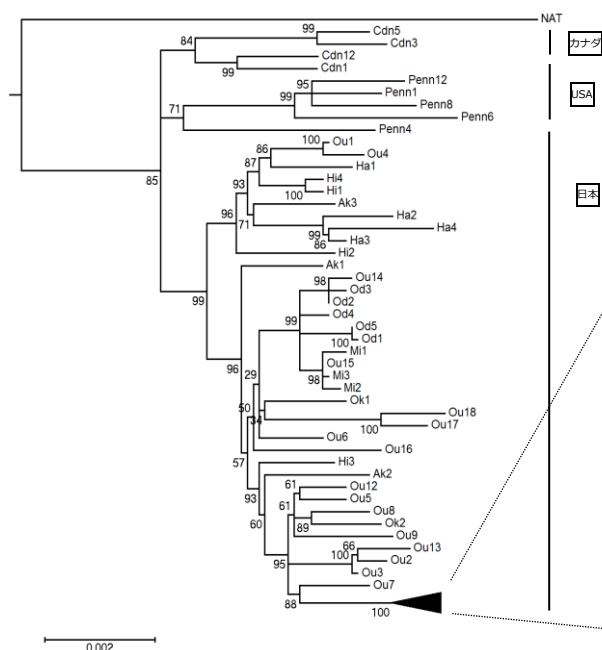
(2) 東久留米 I 圃場において PPV に感染したウメ樹 6 本の主枝 11 本、東久留米 II 圃場においてウメ樹 4 本の主枝 9 本について PPV のシークエンス解析を行った。すべての東久留米分離株の PPV に対して 9786nt の塩基配列を解読し、結果をもとに最尤法を用いた系統樹を作製した(図 3)。国内外で報告されている PPV との比較の結果、東久留米分離株のすべてが一つのクレードを形成しそれらの、分離株は国内で感染が確認された PPV のうち青梅市で確認された一つの分離株 (Ou7) に近い配列を示すことが判明した(図、3a)。東久留米分離株間での系統解析の結果、PPV が分離された圃場ごとで大きな 2 つのクレードを形成するのが確認された。また東久留米 II 圃場で確認された PPV 株について注目すると、圃場東側で分離されたエリア B のサンプルと圃場西側で分離されたエリア C のサンプルにおいて配列の明確な差異が確認され、一つの圃内であってもその発生場所ごとで異なる配列を持った PPV が存在することが確認された。

### 4. 考察

今回の調査で PPV は東久留米市内の 2 圃場で 2015 年～2017 年の間に感染が拡大したことが確認された。その間発見された感染樹は、即時の伐採処理が行われたにもかかわらず、圃場内での PPV 感染が止まることはなく、本ウイルスの防除においては感染樹周辺の樹も同時に伐採することが重要であることが示唆された。東久留米で発生した PPV に対するシークエンスおよび系統樹解析の結果、試験圃場で発生している PPV は青梅市内で分離された 1 つの分離株に近いことが確認された。この事実は PPV がどのように東久留米に持ち込まれたかを推測するうえで重要な知見であると考えられた。東久留米分離株間での比較では、PPV は圃場ごとでより近い配列を示すことが確認された。また東久留米 II 圃場においては、圃場西側のエリア B から分離されたサンプル群および西側のエリア C から分離されたサンプルでも、それぞれの PPV の配列に違いが見られた。

以上の結果より PPV は東久留米市内の 2 圃場で、2014 年頃より感染が見られた 3 つのエリアに独立して持ち込まれたことが考えられた。また隣接した樹に発生した PPV がより近い配列を示すこと、さらに特に東久留米 I 圃場において感染が確認された年が古い PPV 分離株(図 3b: A3-3) が感染年の新しい分離株(図 3b: A5-2、A6-2、A6-3) を含むような系統樹の傾向がみられたこと、また 2015 年で発生した塩基配列の特徴がその後に確認された感染樹でもみられるということが確認されたため、上記のようにして持ち込まれた PPV が圃場内でアブラムシを介して隣接した樹に順々に感染拡大を起こしていった可能性が考えられた。距離が離れて発生した感染樹に関しても感染様態を明らかにするため、今後のシークエンス解析が必要である。本研究により新規感染地に

**a**



**b**

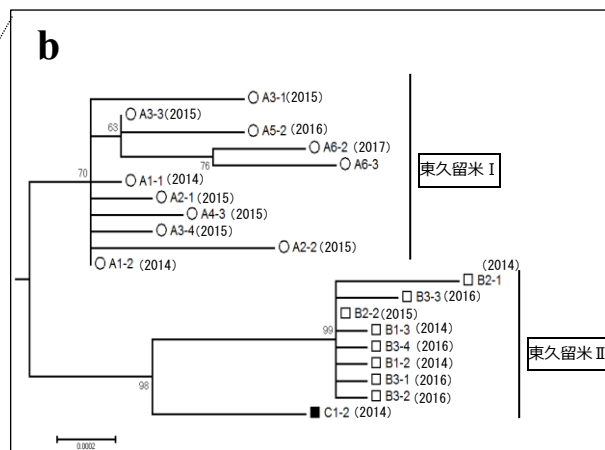


図 3. PPV 東久留米分離株の全長配列を用いた系統樹解析。

General Time Reversible モデルによる最尤法を用いた。ブーストラップ値 (%) は 1,000 回のリサンプルに基づく。a: 東久留米分離株および国内外発生 PPV-D 系統との分離株との比較。(分離された地域は NAT: ヨーロッパ・アブラムシ非媒介株、Cdn: カナダ、Penn: ペンシルベニア、Ak: あきる野市、Ha: 八王子市、Hi: 日の出町、Ok: 奥多摩町、Ou: 青梅市、Mi: 水戸市、Od: 小田原市。) b: 東久留米市内分離株間の比較。記号はシーケンスを行った樹および主枝の番号を表す (e.g. A3-3 の場合 A3 番の PPV 感染ウメの 3 番目の主枝)。○: 東久留米 I 分離株、□: 東久留米 II エリア B 分離株、■: 東久留米 II エリア C 分離株。( ) 内は PPV 感染が確認された年を表す。

おける PPV の感染拡大の様態を探ることができた。今回の知見は、PPV 感染地での感染状態を予測したウイルス検定や伐採の確立につながり、PPV の効率的な防除の実現するうえでの一助となるだろう。

## 参考文献

1. Maejima et al. Molecular Epidemiology of Plum pos virus in japan.(2011).Phytopathology.101:567-74.
2. Gottwald, T.R. et al. Epidemiology of Plum pox 'D'strain in Canada and the USA. Canadian Journal of Plant Pathology. (2013) 35: 442-457.